

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구  
국제사무국

(43) 국제공개일  
2014년 6월 26일 (26.06.2014)



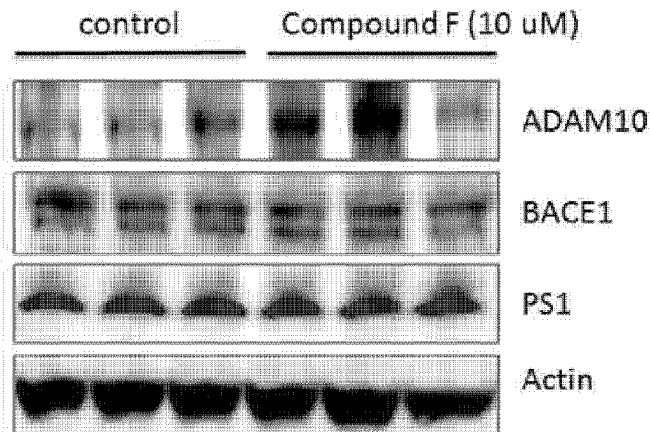
(10) 국제공개번호  
**WO 2014/098512 A1**

- (51) 국제특허분류:  
A61K 31/56 (2006.01) A61P 25/28 (2006.01)  
A61K 36/28 (2006.01) A61P 25/00 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2013/011924
- (22) 국제출원일: 2013년 12월 20일 (20.12.2013)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:  
10-2012-0150980 2012년 12월 21일 (21.12.2012) KR
- (71) 출원인: 부경대학교 산학협력단 (PUKYONG NATIONAL UNIVERSITY INDUSTRY-UNIVERSITY COOPERATION FOUNDATION) [KR/KR]; 608-739 부산시 남구 신선로 365 부경대학교, Busan (KR).
- (72) 발명자: 최재수 (CHOI, Jae-Sue); 608-749 부산시 남구 오륙도동 85 109 동 204 호, Busan (KR). 정현아 (JUNG, Hyun-Ah); 561-786 전라북도 전주시 덕진구 소리로 179 212 동 1604 호, Jeollabuk-do (KR). 정차균 (JUNG, Cha-Gyun); 604-735 부산시 사하구 괴정로 270 번길 34 2 동 410 호, Busan (KR).
- (74) 대리인: 김태선 (KIM, Tae Sun); 135-915 서울시 강남구 테헤란로 37 길 15 영남빌딩 402 호, Seoul (KR).
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[다음 쪽 계속]

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION COMPRISING FUCOSTEROL, AS ACTIVE INGREDIENT, FOR PREVENTING OR TREATING NEURODEGENERATIVE DISEASES

(54) 발명의 명칭 : 푸코스테롤을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환 예방 또는 치료용 약제학적 조성물



(57) Abstract: The present invention relates to a novel use of fucosterol for the treatment of neurodegenerative diseases, and more particularly, to a pharmaceutical composition and functional health food comprising fucosterol, as an active ingredient, for preventing or treating neurodegenerative diseases. The fucosterol of the present invention may effectively increase the expression of ADAM10 which is  $\alpha$ -secretase. Therefore, the composition of the present invention comprising the fucosterol, as an active ingredient, has excellent effects of inhibiting an amyloid beta (A $\beta$ ) peptide production, and thus can be effectively used in pharmaceutical drugs, functional food, and the like for preventing or treating (alleviating) neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease. Particularly, the fucosterol of the present invention is derived from a natural substance, is free of cytotoxicity, and has stability. Therefore, the composition of the present invention comprising the fucosterol, as an active ingredient, has advantages of being safe for long-term use without causing side effects to the human body.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]



WO 2014/098512 A1

**공개:**

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

— 청구범위 보정 기한 만료 전의 공개이며, 보정서를 접수하는 경우 그에 관하여 별도 공개함 (규칙 48.2(h))

본 발명은 푸코스테롤의 퇴행성 신경질환 치료의 신규 용도에 관한 것으로, 자세하게는 푸코스테롤을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물 및 건강기능식품에 관한 것이다. 본 발명의 푸코스테롤은  $\alpha$ -세크레타아제( $\alpha$ -secretase)인 ADAM10의 발현을 효과적으로 증대시킬 수 있으므로, 이를 유효성분으로 포함하는 본 발명의 조성물은 아밀로이드 베타(A $\beta$ ) 펩티드 생성 억제 효과가 우수하여 알츠하이머와 같은 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료(개선)를 위한 약제학적 의약품, 기능성 식품 등에 유용하게 사용될 수 있다. 특히 본 발명의 푸코스테롤은 천연물로부터 유래된 물질로서, 세포독성 없이 안정성을 가지므로, 이를 유효성분으로 포함하는 본 발명의 조성물은 인체에 부작용 없이 장기적 사용에도 안전한 이점을 가진다.

## 명세서

### 발명의 명칭: 푸코스테롤을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환 예방 또는 치료용 약제학적 조성물

#### 기술분야

- [1] 본 발명은 푸코스테롤의 퇴행성 신경질환 치료의 신규 용도에 관한 것으로, 자세하게는 푸코스테롤을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 약제학적 조성물 및 건강기능식품에 관한 것이다.

[2]

#### 배경기술

- [3] 전 세계적으로 고령인구가 증가하고 있으며, 우리나라도 2000년도에 이미 고령화 사회에 접어들었고, 2010년에는 65세 이상 인구가 차지하는 비율이 11%로 상승했다. 2018년이면 고령 사회, 2026년이면 초고령 사회로 접어들 것이라고 예견되고 있는 상황에서 고령인구의 노인성 질병의 해결이 시급한 사회적 문제로 대두되고 있다.
- [4] 특히 노인성 치매질환의 약 절반을 차지하는 알츠하이머병은 현재로써는 유효한 치료방법과 예방방법이 없으며, 고령화 사회에 있어서 가장 시급히 해결해야 할 신경질환중의 하나이기에 연구가 많이 요구되는 분야이다. 아밀로이드 베타(amyloid beta: A $\beta$ ) 펩티드는 알츠하이머병의 중요한 원인으로 알려져 있을 뿐만 아니라 파킨슨, 당뇨병과 같은 다양한 질병들의 원인으로도 알려져 있다(Zhao 등, 2004; Eichner 등, 2011). 이러한 질환들에서 나타나는 현상으로는 정상적으로는 수용성이어야 하는 아밀로이드 단백질이 플라크(plaque) 형태로 응집되면 뇌의 신경세포에서 정상적인 뉴런기능을 간섭함으로 인해 알츠하이머 질병을 유발하는 것으로 보고되고 있다 (Lambert 등, 1998; Kirkitadze 등, 2002; Kim 등, 2003; Kounnas 등, 2010).
- [5] 아밀로이드 베타 펩티드의 생성은 아밀로이드 전구 단백질(amyloid precursor protein: APP)의 분할에 의해서 이루어지는데, 아밀로이드 전구 단백질(APP)은  $\beta$ -세크레타아제와  $\gamma$ -세크레타아제( $\beta$ -secretase and  $\gamma$ -secretase)에 의하여 아밀로이드 베타 40(A $\beta$ 40)과 42(A $\beta$ 42)단량체가 생성되고 이것들이 집적하여 올리고머(oligomer)를 형성하며, 이 올리고머의 집적으로 프로토피브릴(protofibril), 피브릴(fibril), 플라그(plaque)의 단계를 거치게 된다. 아밀로이드 베타 피브릴은 90%의 아밀로이드-베타 40(A $\beta$ 40)과 10%의 아밀로이드-베타 42(A $\beta$ 42)로 되어 있는데, 이들 중 아밀로이드-베타 42가 인 비보(in vivo)나 인 비트로(in vitro)에서 강한 신경 독성을 보이며 응집력도 강하며 뇌세포 사멸을 유도하기 때문에 아밀로이드-베타 42(A $\beta$ 42)가 알츠하이머병과 같은 뇌질환 치료제의 타겟으로서 주목받고 있다.
- [6] 한편, 아밀로이드 전구 단백질을 분할할 수 있는 효소로서 상기

$\beta$ -세크레타아제( $\beta$ -secretase) 이외에  $\alpha$ -세크레타아제( $\alpha$ -secretase)가 존재하며, 이들은 아밀로이드 베타 펩티드 형성에 각기 서로 반대되는 조절 역할을 한다고 알려져 있다. 즉,  $\beta$ -세크레타아제( $\beta$ -secretase)는 아밀로이드 전구 단백질 (amyloid precursor protein: APP)의 분할 첫 번째 단계에서 아밀로이드 베타 40과 아밀로이드 베타42 단량체 형성의 촉매 역할을 하는데 반해,  $\alpha$ -세크레타아제( $\alpha$ -secretase)는 아밀로이드 전구 단백질의 다른 부분 (아밀로이드 베타 펩티드의 중간부분)을 절단하여 비-아밀로이드성 가용성 APP를 생성함으로써 아밀로이드 베타 펩티드가 생성되지 못하도록 한다.

- [7] 따라서  $\alpha$ -세크레타아제( $\alpha$ -secretase) 증가는 아밀로이드 베타 펩티드의 생성을 줄여서 알츠하이머 병을 치료하는 방법으로 기대를 모으고 있으며, 최근 독일의 Ludwig Maximilians 대학의 과학자들은 ADAM10(a disintegrin and metalloprotease 10)이  $\alpha$ -세크레타아제( $\alpha$ -secretase)임을 확인하여 'EMBO Journal'에 이를 발표하였다. 그러나 현재  $\alpha$ -세크레타아제( $\alpha$ -secretase)를 분자적 수준에서 동정하고, 이들의 기작을 규명하는 현재 많은 연구가 진행되지 못한 상태이며, 실제로  $\alpha$ -세크레타아제( $\alpha$ -secretase) 발현을 촉진하는 약물은 잘 알려져 있지 않다.

- [8] 한편, 푸코스테롤(fucosterol)은 갈조류 또는 규조류나 황갈조류에서 발견되는 스테롤화합물이다. 푸코스테롤에 관한 연구로는 내피 세포에서 글루코코르티코이드 리셉터(glucocorticoid receptor)의 감소와 함께 엔지오텐신 전환효소(angiotensin converting enzyme) 수치를 감소시키는 것으로 알려져 있으며; 또한 쥐에서 콜레스테롤의 림프적 흡수를 저해하는 것으로 보고되었고(Ikeda et al., J Lipid Res 29, 1573-8152 (1988)); 항 곰팡이 활성을 나타내는 것으로 보고되었으며(Atta-ur-Rahman et al., Phytochemistry 46, 1215-1218 (1997)); P-388 암세포 라인(cancer cell lines)에 대한 세포독성을 보이는 것으로 보고되었다(Tang et al., J Asian Nat Prod Res 4, 95-101 (2002)).

- [9] 그러나 푸코스테롤의  $\alpha$ -세크레타아제( $\alpha$ -secretase) 발현에 미치는 영향 및 이로 인해 아밀로이드 베타 펩티드의 생성 억제 효과는 연구된 바 없다.

- [10] 이에 본 발명자들은 해조류를 이용한 기능성 약제학적 또는 식품학적 소재를 연구하던 중, 이들로부터 분리된 푸코스테롤이  $\alpha$ -세크레타아제( $\alpha$ -secretase)인 ADAM10의 발현을 효과적으로 증대시킴으로써 아밀로이드 펩티드 생성을 억제한다는 사실을 발견하였으며, 이와 같은 발견은 알츠하이머와 같은 퇴행성 신경질환의 예방, 개선 또는 치료에 유용함을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

- [11]

## 발명의 상세한 설명

### 기술적 과제

- [12] 따라서 본 발명의 목적은 장기간 사용에도 인체에 안정하면서 아밀로이드

베타(A $\beta$ ) 펩티드 생성 억제 효과가 우수하여 알츠하이머를 포함한 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료에 유용한 조성물을 제공하는 것이다.

- [13] 또한 본 발명의 다른 목적은 장기간 사용에도 인체에 안정하면서 아밀로이드 베타(A $\beta$ ) 펩티드 생성 억제 효과가 우수하여 알츠하이머를 포함한 퇴행성 신경질환의 예방 또는 개선에 유용한 건강기능식품을 제공하는 것이다.

[14]

### 과제 해결 수단

- [15] 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위해서, 본 발명은 푸코스테롤(fucosterol)을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환 예방 또는 치료용 약제학적 조성물을 제공한다.
- [16] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 푸코스테롤은 곰피(*Ecklonia stolonifera*) 유래일 수 있다.
- [17] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 푸코스테롤은 조성물에 대하여 1 내지 100 $\mu$ M의 농도로 포함될 수 있다.
- [18] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 푸코스테롤은 아밀로이드 전구 단백질(amyloid precursor protein: APP) 절단 효소 중  $\alpha$ -세크레타아제( $\alpha$ -secretase)의 활성 또는 발현을 증대시키는 기작을 통해 아밀로이드 베타(A $\beta$ ) 펩티드의 생성을 억제할 수 있다.
- [19] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기  $\alpha$ -세크레타아제( $\alpha$ -secretase)는 ADAM10(a disintegrin and metalloprotease 10)일 수 있다.
- [20] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 퇴행성 신경질환은 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환, 루게릭 질환, 헌팅톤 질환, 근위축성 측삭 경화증, 다발성 경화증, 면역계 이상 뇌기능 부전, 진행성 신경퇴행질환, 대사성 뇌질환, 니만-픽병, 뇌 허혈 및 뇌출혈로 인한 치매로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [21] 또한, 본 발명은 푸코스테롤(fucosterol)을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.
- [22] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 푸코스테롤은 아밀로이드 전구 단백질(amyloid precursor protein: APP) 절단 효소 중  $\alpha$ -세크레타아제( $\alpha$ -secretase)의 활성 또는 발현을 증대시키는 기작을 통해 아밀로이드 베타(A $\beta$ ) 펩티드의 생성을 억제할 수 있다.
- [23] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 퇴행성 신경질환은 알츠하이머 질환일 수 있다.
- [24] 본 발명의 일실시예에 있어서, 상기 식품은 음료류, 육류, 초코렛, 식품류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 떡류, 껌류, 사탕류, 아이스크림류, 알코올 음료류, 주류, 비타민 복합제 및 건강보조식품류로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[25]

### 발명의 효과

- [26] 본 발명의 푸코스테롤은  $\alpha$ -세크레타아제( $\alpha$ -secretase)인 ADAM10의 발현을 효과적으로 증대시킬 수 있으므로, 이를 유효성분으로 포함하는 본 발명의 조성물은 아밀로이드 베타(A $\beta$ ) 펩티드 생성 억제 효과가 우수하여 알츠하이머와 같은 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료(개선)를 위한 약제학적 의약품, 기능성 식품 등에 유용하게 사용될 수 있다. 특히 본 발명의 푸코스테롤은 천연물로부터 유래된 물질로서, 세포독성 없이 안정성을 가지므로, 이를 유효성분으로 포함하는 본 발명의 조성물은 인체에 부작용 없이 장기적 사용에도 안전한 이점을 가진다.

[27]

### 도면의 간단한 설명

- [28] 도 1은 농도별 푸코스테롤의 HEK293-APP 세포주에 처리에 따른 아밀로이드 베타 펩티드(A $\beta$ 40 및 A $\beta$ 42)의 생성 억제 정도를 sandwich ELISA를 이용하여 측정한 것이다.

- [29] 도 2는 푸코스테롤의 HEK293-APP 세포주에 처리에 따른 아밀로이드 전구 단백질 절단 효소( $\alpha$ -secretase: ADAM10,  $\beta$ -secretase: BACE1,  $\gamma$ -secretase 구성성분: PS1)의 단백질 발현에 미치는 영향을 웨스턴 블랏법을 이용하여 측정한 것이다.

[30]

### 발명의 실시를 위한 형태

- [31] 본 발명은 푸코스테롤의 신규 용도에 관한 것으로서, 푸코스테롤을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환 예방 또는 치료용 조성물을 제공함에 그 특징이 있다.

- [32] 본 발명의 ‘푸코스테롤(fucosterol)’은 갈조류 또는 규조류나 황갈조류에서 발견되는 스테롤화합물로서, 식물성 스테롤(plant sterol) 또는 식물성 스타놀(plant stanol)이라 불려지고, 동물에서 합성되는 콜레스테롤과 구조적으로 비슷하며 동물의 세포막에 콜레스테롤이 필수성분인 것과 마찬가지로, 식물의 세포막에서는 식물성 스테롤이 없어서는 안 될 필수 구성성분 중의 하나이다.

- [33] 현재까지 보고된 푸코스테롤에 관한 연구로는, 내피 세포에서 글루코코르티코이드 리셉터(glucocorticoid receptor)의 감소와 함께 엔지오텐신 전환효소(angiotensin converting enzyme) 수치를 감소시키는 것으로 알려져 있으며; 또한 쥐에서 콜레스테롤의 림프적 흡수를 저해하는 것으로 보고되었고(Ikeda et al., J Lipid Res 29, 1573-8152 (1988)); 항 곰팡이 활성을 나타내는 것으로 보고되었으며(Atta-ur-Rahman et al., Phytochemistry 46, 1215-1218 (1997)); P-388 암세포 라인(cancer cell lines)에 대한 세포독성에 대한 연구가 보고된바 있다(Tang et al., J Asian Nat Prod Res 4, 95-101 (2002)).

- [34] 그러나 푸코스테롤의  $\alpha$ -세크레타아제( $\alpha$ -secretase) 발현에 미치는 영향 및 이로 인해 아밀로이드 베타 펩티드의 생성 억제 기작을 통한 퇴행성 신경질환의 예방

또는 치료 효과는 연구된 바 없다.

- [35] 본 발명자들은 해조류인 곰피(*Ecklonia stolonifera*) 유래의 푸코스테롤이  $\alpha$ -세크레타아제( $\alpha$ -secretase)인 ADAM10의 발현을 효과적으로 증대시킬 수 있음을 확인함으로써, 이를 통해 아밀로이드 베타 펩티드(A $\beta$ 40 및 A $\beta$ 42)의 생성을 효과적으로 억제할 수 있다는 사실을 최초로 규명하였다.
- [36] 이러한 사실을 본 발명의 일실시예를 통해 확인할 수 있었는데, 아밀로이드 전구 단백질(APP)을 발현하는 세포주(HEK293-APP)에 푸코스테롤을 농도별(0.1, 0.5, 1, 5, 10 $\mu$ M)로 처리한 후 24시간이 경과한 시점에서 세포에 의해 생산되는 아밀로이드 베타 40(A $\beta$ 40) 및 아밀로이드 베타 42(A $\beta$ 42)의 양을 sandwich ELISA 방법을 통해 측정된 결과, 대조군과 비교하여 본 발명의 푸코스테롤을 처리한 실험군에서 농도 의존적으로 아밀로이드 베타 42(A $\beta$ 42)의 생성량이 감소된 것을 확인할 수 있었으며, 아밀로이드 베타 40(A $\beta$ 40)의 경우 푸코스테롤을 10 $\mu$ M을 처리한 실험군에서 유의적으로 감소된 것을 확인할 수 있었다(도 1 참조).
- [37] 또한 본 발명의 다른 실시예에서는, 푸코스테롤의 아밀로이드 전구 단백질(APP)을 절단하는 효소( $\alpha$ -secretase: ADAM10,  $\beta$ -secretase: BACE1,  $\gamma$ -secretase 구성성분: PS1)에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 웨스턴 블랏을 실시한 결과, 푸코스테롤을 처리한 실험군에서 경우 ADAM10 단백질 발현이 두드러지게 증대된 반면, BACE1 및 PS1 단백질 발현은 변화되지 않는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과를 통해, 푸코스테롤의 처리로 인한 아밀로이드 베타 40(A $\beta$ 40)과 아밀로이드 베타 42(A $\beta$ 42)의 생성 감소는 ADAM10의 발현 증가에 기인하는 것이라 판단되었다.
- [38] 따라서 본 발명자들은 푸코스테롤이  $\alpha$ -세크레타아제인 ADAM10의 발현을 증대를 통해, 뇌세포 사멸을 유도하는 아밀로이드-베타 42 생성을 직접적으로 억제시킬 수 있음을 실험적으로 입증하였다.
- [39] 그러므로 푸코스테롤을 유효성분으로 포함하는 본 발명의 조성물은 퇴행성 신경질환을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있다.
- [40] 본 발명에 따른 상기 푸코스테롤은 염, 바람직하게는 약학적으로 허용 가능한 염의 형태로 사용될 수 있다. 상기 염으로는 약학적으로 허용 가능한 유리산(free acid)에 의하여 형성된 산 부가염이 바람직하며, 상기 유리산으로는 유기산과 무기산을 사용할 수 있다. 상기 유기산은 이에 제한되는 것은 아니나, 구연산, 초산, 젖산, 주석산, 말레인산, 푸마르산, 포름산, 프로피온산, 옥살산, 트리플로오로아세트산, 벤조산, 글루콘산, 메타술폰산, 글리콜산, 숙신산, 4-톨루엔술폰산, 글루탐산 및 아스파르트산을 포함한다. 또한 상기 무기산은 이에 제한되는 것은 아니나, 염산, 브롬산, 황산 및 인산을 포함한다.
- [41] 본 발명에 따른 푸코스테롤은 시중에서 판매되는 것을 사용할 수도 있으며, 또는 천연으로부터 분리되거나 당업계에 공지된 화학적 합성법으로 제조된 것을 사용할 수 있다.
- [42] 본 발명의 푸코스테롤을 천연물로부터 분리하고 하는 경우, 분리방법에는

제한이 없으며, 공지되어 있는 어떠한 방법도 이용될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 푸코스테롤은 곰피의 조추출물을 추출한 후 n-헥산으로 추가 분획하여 n-헥산 분획물을 제조한 다음, 여기에 디클로로메탄 : 메탄올의 혼합용매를 이용하여 키에셀 겔 칼럼 크로마토그래피와 재결정법을 수행하는 과정을 통해 분리될 수 있다.

- [43] 본 발명의 일 구체예에서, 본 발명의 곰피 조추출물은 곰피를 동결 건조하여 분말화 한 후, 곰피 건조 중량의 약 3 내지 20배, 바람직하게는 약 3 내지 5배에 달하는 부피의 에탄올로, 바람직하게는 20 내지 70°C의 추출 온도에서 약 0.5시간 내지 2일, 바람직하게는 1시간 내지 1일 동안 열수 추출방법으로 1회 내지 5회, 바람직하게는 3회 연속 추출하여 수득한 후, 감압여과하고 여액을 진공회전농축기로 20 내지 100°C, 바람직하게는 40 내지 70°C에서 감압 농축하여 곰피 조추출물을 수득할 수 있다. 그런 다음, 상기 곰피 조추출물은 물에 현탁한 후, n-헥산, 디클로로메탄, 에틸아세테이트, n-부탄올 순으로 용매를 이용하여 추출하여 본 발명의 곰피 비극성 용매 가용 추출물, 바람직하게는 n-헥산 가용성 분획물을 수득할 수 있다. 이후, 상기 비극성 용매 n-헥산 분획물에 대하여 디클로로메탄 : 메탄올의 혼합용매, 바람직하게는 디클로로메탄 : 메탄올의 20 : 1 → 디클로로메탄 : 메탄올 10 : 1 → 디클로로메탄 : 메탄올 10 : 3의 혼합용매로 시간당 일정용량, 바람직하게는 1000 ml의 속도로 키에셀 겔 칼럼 크로마토그래피와 재결정법을 수행하여 푸코스테롤 화합물을 수득할 수 있다.
- [44] 본 발명의 조성물은 상기 푸코스테롤을 유효성분으로 포함하는 약제학적 조성물로서 이러한 유효성분 이외에 약제학적으로 적합하고 생리학적으로 허용되는 보조제를 사용하여 제조될 수 있으며, 상기 보조제로는 부형제, 붕해제, 감미제, 결합제, 피복제, 팽창제, 윤활제, 활택제 또는 향미제 등을 사용할 수 있다.
- [45] 상기 약제학적 조성물은 투여를 위해서 상기 기재한 유효성분 이외에 추가로 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1종 이상 포함하여 약제학적 조성물로 바람직하게 제제화할 수 있다.
- [46] 상기 약제학적 조성물의 제제 형태는 과립제, 산제, 정제, 피복정, 캡슐제, 좌제, 액제, 시럽, 즙, 현탁제, 유제, 점적제 또는 주사 가능한 액제 등이 될 수 있다. 예를 들어, 정제 또는 캡슐제의 형태로의 제제화를 위해, 유효 성분은 에탄올, 글리세롤, 물 등과 같은 경구, 무독성의 약제학적으로 허용 가능한 불활성 담체와 결합될 수 있다. 또한, 원하거나 필요한 경우, 적합한 결합제, 윤활제, 붕해제 및 발색제 또한 혼합물로 포함될 수 있다. 적합한 결합제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 젤라틴, 글루코스 또는 베타-락토오스와 같은 천연 당, 옥수수 감미제, 아카시아, 트래커캔스 또는 소듐올레이트와 같은 천연 및 합성 검, 소듐 스테아레이트, 마그네슘 스테아레이트, 소듐 벤조에이트, 소듐 아세테이트, 소듐 클로라이드 등을 포함한다. 붕해제는 이에 제한되는 것은 아니나, 녹말, 메틸 셀룰로스, 아가, 벤토니트, 잔탄 검 등을 포함한다. 액상

용액으로 제제화되는 조성물에 있어서 허용 가능한 약제학적 담체로는, 멸균 및 생체에 적합한 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사용액, 텍스트로즈 용액, 말토 덱스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다. 더 나아가 해당분야의 적절한 방법으로 Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Company, Easton PA에 개시되어 있는 방법을 이용하여 각 질환에 따라 또는 성분에 따라 바람직하게 제제화 할 수 있다.

- [47] 본 발명의 일실시에에 있어서, 본 발명의 푸코스테롤은 조성물에 1 내지 1000 $\mu$ M의 농도로 포함될 수 있으며, 또한 본 발명의 푸코스테롤 화합물은 조성물 총 중량에 대하여 0.1 ~ 95중량%로 포함될 수 있다.
- [48] 본 발명의 약제학적 조성물이 치료효과를 나타낼 수 있는 퇴행성 신경질환으로는, 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환, 루게릭 질환, 헌팅톤 질환, 근위축성 측삭 경화증, 다발성 경화증, 면역계 이상 뇌기능 부전, 진행성 신경퇴행질환, 대사성 뇌질환, 니만-픽병, 뇌 허혈 및 뇌출혈로 인한 치매 등을 들 수 있되, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [49] 또한, 본 발명은 퇴행성 신경질환 예방 또는 치료용 의약의 제조를 위한 푸코스테롤을 유효성분으로 포함하는 조성물의 용도를 제공한다. 상기한 푸코스테롤을 유효성분으로 포함하는 본 발명의 조성물은 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료용 의약의 제조를 위한 용도로 이용될 수 있다.
- [50] 또한, 본 발명은 포유동물에게 푸코스테롤을 투여하는 것을 포함하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 치료방법을 제공한다.
- [51] 여기에서 사용된 용어 "포유동물"은 치료, 관찰 또는 실험의 대상인 포유동물을 말하며, 바람직하게는 인간을 말한다.
- [52] 여기에서 사용된 용어 "치료상 유효량"은 연구자, 의사, 의사 또는 기타 임상에서 의해 생각되는 조직계, 동물 또는 인간에서 생물학적 또는 의학적 반응을 유도하는 유효 성분 또는 약제학적 조성물의 양을 의미하는 것으로, 이는 치료되는 질환 또는 장애의 증상의 완화를 유도하는 양을 포함한다. 본 발명의 유효 성분에 대한 치료상 유효 투여량 및 투여횟수는 원하는 효과에 따라 변화될 것임은 당업자에게 자명하다. 그러므로 투여될 최적의 투여량은 당업자에 의해 쉽게 결정될 수 있으며, 질환의 종류, 질환의 중증도, 조성물에 함유된 유효성분 및 다른 성분의 함량, 제형의 종류, 및 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료기간, 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자에 따라 조절될 수 있다. 본 발명의 치료방법에 있어서, 성인의 경우, 본 발명의 푸코스테롤을 1일 1회 내지 수회 투여시, 0.01mg/kg~250mg/kg의 용량으로 투여하는 것이 바람직하다.

- [53] 본 발명의 치료방법에서 본 발명의 푸코스테롤을 유효성분으로 포함하는 조성물은 경구, 직장, 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 흉골내, 경피, 국소, 안구내 또는 피내 경로를 통해 통상적인 방식으로 투여할 수 있다.
- [54] 또한, 본 발명은 푸코스테롤을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환의 예방 또는 개선용 건강기능식품을 제공한다.
- [55] 본 발명의 건강기능식품은 퇴행성 신경질환의 예방 및 개선을 목적으로, 정제, 캡셀, 분말, 과립, 액상, 환 등의 형태로 제조 및 가공할 수 있다.
- [56] 본 발명에서 “건강기능식품”이라 함은 건강기능식품에 관한 법률 제6727호에 따른 인체에 유용한 기능성을 가진 원료나 성분을 사용하여 제조 및 가공한 식품을 말하며, 인체의 구조 및 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건 용도에 유용한 효과를 얻을 목적으로 섭취하는 것을 의미한다.
- [57] 본 발명의 건강기능식품은 통상의 식품 첨가물을 포함할 수 있으며, 식품 첨가물로서의 적합 여부는 다른 규정이 없는 한, 식품의약품안전청에 승인된 식품 첨가물 공전의 총칙 및 일반시험법 등에 따라 해당 품목에 관한 규격 및 기준에 의하여 판정한다.
- [58] 상기 “식품 첨가물 공전”에 수제된 품목으로는 예를 들어, 케톤류, 글리신, 구연산칼슘, 니코틴산, 계피산 등의 화학적 합성물; 감색소, 감초추출물, 결정셀룰로오스, 고량색소, 구아검 등의 천연첨가물; L-글루타민산나트륨제제, 면류첨가알칼리제, 보존료제제, 타르색소제제 등의 혼합제제류 등을 들 수 있다.
- [59] 예를 들어, 정제 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분인 푸코스테롤을 부형제, 결합제, 붕해제 및 다른 첨가제와 혼합한 혼합물을 통상의 방법으로 과립화한 다음, 활택제 등을 넣어 압축성형하거나, 상기 혼합물을 직접 압축 성형할 수 있다. 또한 상기 정제 형태의 건강기능식품은 필요에 따라 교미제 등을 함유할 수도 있다.
- [60] 캡셀 형태의 건강기능식품 중 경질 캡셀제는 통상의 경질 캡셀에 본 발명의 유효성분인 푸코스테롤을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 충전하여 제조할 수 있으며, 연질 캡셀제는 푸코스테롤을 부형제 등의 첨가제와 혼합한 혼합물을 젤라틴과 같은 캡셀기체에 충전하여 제조할 수 있다. 상기 연질 캡셀제는 필요에 따라 글리세린 또는 소르비톨 등의 가소제, 착색제, 보존제 등을 함유할 수 있다.
- [61] 환 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분인 푸코스테롤과 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 성형하여 조제할 수 있으며, 필요에 따라 백당이나 다른 제피제로 제피할 수 있으며, 또는 전분, 탈크와 같은 물질로 표면을 코팅할 수도 있다.
- [62] 과립 형태의 건강기능식품은 본 발명의 유효성분인 푸코스테롤과 부형제, 결합제, 붕해제 등을 혼합한 혼합물을 기존에 공지된 방법으로 입상으로 제조할 수 있으며, 필요에 따라 착향제, 교미제 등을 함유할 수 있다.

[63] 상기 건강기능식품은 음료류, 육류, 초코렛, 식품류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 사탕류, 아이스크림류, 알코올 음료류, 비타민 복합제 및 건강보조식품류 등일 수 있다.

[64]

[65] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 보다 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 한정되는 것은 아니다.

[66]

[67] <실시예 1>

[68] 푸코스테롤의 분리 및 동정

[69] 본 발명의 푸코스테롤은 곰피의 조추출물을 추출한 후 n-헥산으로 추가 분획하여 n-헥산 분획물을 제조한 다음, 여기에 디클로로메탄 : 메탄올의 혼합용매를 이용 키에셀 겔 칼럼 크로마토그래피와 재결정법을 수행하는 과정을 통해 푸코스테롤 화합물을 수득하였다.

[70] 먼저, 본 발명의 곰피 조추출물은 곰피를 동결 건조하여 분말화 한 후, 곰피 건조 중량의 4배에 달하는 부피의 에탄올로, 50°C의 추출 온도에서 24시간 동안 열수 추출방법으로 3회 연속 추출하여 수득한 후, 감압여과하고 여액을 진공회전농축기로 70°C에서 감압 농축하여 곰피 조추출물을 수득하였다.

[71] 그런 다음, 상기 곰피 조추출물은 물에 현탁한 후, n-헥산, 디클로로메탄, 에틸아세테이트, n-부탄올 순으로 용매를 이용하여 추출하여 본 발명의 곰피 비극성 용매 가용 추출물, 바람직하게는 n-헥산 가용성 분획물을 수득할 수 있었다.

[72] 이후, 상기 비극성 용매 n-헥산 분획물에 대하여 디클로로메탄 : 메탄올의 혼합용매, 바람직하게는 디클로로메탄 : 메탄올의 20 : 1 → 디클로로메탄 : 메탄올 10 : 1 → 디클로로메탄 : 메탄올 10 : 3의 혼합용매로 시간당 일정용량, 바람직하게는 1000 ml의 속도로 키에셀 겔 칼럼 크로마토그래피와 재결정법을 수행하여 푸코스테롤 화합물을 최종적으로 수득하였다.

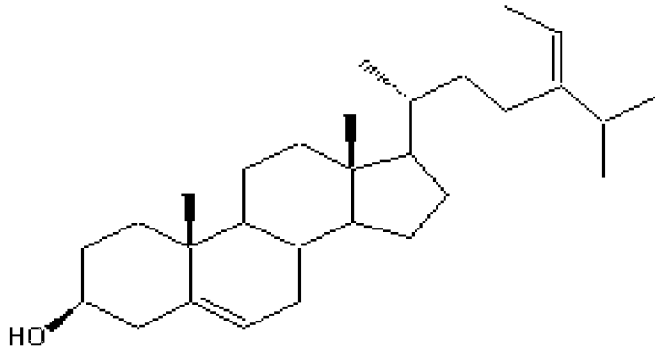
[73] 또한, 상기 과정을 통해 수득한 화합물을 동정하기 위하여 분광특성을 분석하였으며, 그 결과 본 화합물이 하기 화학식 1의 구조를 갖는 푸코스테롤임을 확인할 수 있었다.

[74] Fucosterol, (24E0)-Stigmasta-5, 24(28)-diene-3 $\beta$ -ol: white solid (0.05% dry wt) m.p. 133-135°C. IR (cm<sup>-1</sup>): 3480 (OH), 1945 (C = C-H), 1640 (C = C), 1370 (gem. Di-Me); EI-MS m/z: 412 [M, C<sub>29</sub>H<sub>48</sub>O] + , 397 [M-CH<sub>3</sub>] + , 379 [M-CH<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>O] + , 314 (100) [M-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O] + . <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) 0.86- 0.88 (d, J = 6.6 Hz, 6H, Me-26 and Me-27), 0.91 (d, J = 6.6 Hz, 3H, Me-21), 0.68 (s, 3H, Me-18), 1.00 (s, 3H, Me-19), 1.59 (d, J = 6.6 Hz, 3H, Me-29), 3.53 (m, H, H-3), 5.35 (m, H, H-6), 5.11 (q, H, H-28), 2.22 (sep, J = 6.6 Hz, H, H-25). <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) (39.75, C-1), (35.20, C-2), (71.80, C-3), (42.33, C-4), (140.74, C-5), (121.70, C-6),

(36.14, C-7), (35.78, C-8), (50.10, C-9), (39.72, C-10), (28.23, C-11), (42.28, C-12), (42.30, C-13), (56.74, C-14), (31.64, C-15), (34.78, C-16), (56.72, C-17), (11.85, C-18), (19.40, C-19), (39.50, C-20), (24.32, C-21), (37.23, C-22), (31.90, C-23), (146.00, C-24), (33.90, C-25), (22.50, C-26), (22.23, C-27), (115.94, C-28), (18.90, C-29).

[75]

[76] 화학식 1



[77]

[78] &lt;실시예 2&gt;

[79] **HEK293-APP 세포 제조 및 배양**

[80] 인간 APP(amyloid precursor protein)695 cDNA를 PCR로 증폭시킨 후, PCR생성물을 pcDNA3.1 벡터에 넣은 후 시퀀서를 이용해 확인하였다 (이하 'pcDNA3.1-hAPP695'로 명명함). 인간 APP 단백질을 안정하게 발현하는 HEK293-APP 세포주를 만들기 위해, 먼저 pcDNA3.1-hAPP695 벡터를 HEK293세포에 리포펙타민 2000 트랜스펙션 시약을 이용해 pcDNA3.1-hAPP695 벡터를 도입한 후 24시간 배양하였다. hAPP695가 도입된 세포를 선별하기 위해 G418시약을 넣은 후 7일간 배양함으로써 살아남은 세포를 선별한 후, 96웰 플레이트에 세포가 하나씩 들어가도록 한 후 G418시약의 존재 하에 7일간 배양함으로써 hAPP695가 안정적으로 발현하는 HEK293-APP세포주를 제조하였다.

[81]

[82] &lt;실험예 1&gt;

[83] **푸코스테롤의 아밀로이드 베타 펩티드 억제 활성**

[84] 본 실험에서는 푸코스테롤의 아밀로이드 베타 펩티드의 생성 억제 활성을 살펴보기 위하여, 아밀로이드 전구 단백질(APP)을 발현하는 세포주(HEK293-APP)에 푸코스테롤을 농도별(0.1, 0.5, 1, 5, 10 $\mu$ M)로 처리한 후 24시간이 경과한 시점에서 세포에 의해 생산되는 아밀로이드 베타 40(A $\beta$ 40) 및 아밀로이드 베타 42(A $\beta$ 42)의 양을 sandwich ELISA 방법을 통해 측정하였다. 대조군으로는 상기 푸코스테롤 대신 0.1% DMSO를 처리하였다.

[85] 이를 위해, 먼저 HEK293-APP 세포를 배양하는 96웰 플레이트에

항-A $\beta$ 40/항-A $\beta$ 42 각각을 2 $\mu$ g/mL으로 4°C에서 밤새 반응시킨 후, 차단용액(1% BSA/PBST)으로 비특이적 결합을 차단시켰다. 이후, biotinylated 항-A $\beta$ 40/항-A $\beta$ 42 각각을 2시간 동안 실온에서 반응시킨 후 4회 세척한 다음, ExtraAvidin-Alkaline Phosphatase conjugate를 첨가하여 실온에서 2시간 동안 반응시켰다. 이후, PNPP/DEA 용액을 넣고 발색한 후 405 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

[86] 그 결과 도 1에서 나타낸 바와 같이, 대조군(0.1% DMSO 처리군)과 비교하여 본 발명의 푸코스테롤을 처리한 실험군에서 농도 의존적으로 아밀로이드 베타 42(A $\beta$ 42)의 생성량이 감소된 것으로 나타났고, 아밀로이드 베타 40(A $\beta$ 40)의 경우 푸코스테롤을 10 $\mu$ M의 농도로 처리한 실험군에서 유의적으로 감소된 것을 확인할 수 있었다.

[87] 이러한 결과를 통해, 푸코스테롤이 아밀로이드 베타 펩티드의 생성을 유의적으로 감소시킬 수 있으며, 특히 뇌세포 사멸을 유도(신경독성)하는 것을 알려진 아밀로이드 베타 42 (A $\beta$ 42)의 생성을 더욱더 효과적으로 억제할 수 있음을 알 수 있었다.

[88]

[89] <실험예 2>

[90] 푸코스테롤의 ADAM10 단백질 발현 증대 효과

[91] 상기 실험예 1에서는 본 발명의 푸코스테롤이 아밀로이드 베타 펩티드 생성을 효과적으로 감소시킬 수 있음을 확인하였는바, 본 실험에서는 푸코스테롤이 아밀로이드 전구 단백질(APP)을 절단하는 효소에도 영향을 미치는지 조사하였다. 이를 위해 HEK293-APP 세포주에 푸코스테롤을 10 $\mu$ M 농도를 처리한 후,  $\alpha$ -세크레타아제로서 ADAM10을,  $\beta$ -세크레타아제로서 BACE1을,  $\gamma$ -세크레타아제로서 PS1에 대한 단백질의 발현 정도를 웨스턴 블랏(western blot)을 통해 조사하였다. 대조군으로는 상기 푸코스테롤 대신 0.1% DMSO를 처리한 것을 사용하였다.

[92] 아밀로이드 전구 단백질(APP)을 절단하는 효소는  $\alpha$ -세크레타아제,  $\beta$ -세크레타아제 및  $\gamma$ -세크레타아제의 3종류의 효소가 존재하며, 아밀로이드 전구 단백질(APP)은  $\beta$ -세크레타아제와  $\gamma$ -세크레타아제에 의해 아밀로이드 베타 42 단량체가 된 후 집적하여 올리고머를 형성한다. 반면에,  $\alpha$ -세크레타아제는 비-아밀로이드성 가용성 APP를 생성함으로써 아밀로이드 베타 펩티드가 생성되지 못하도록 하는 역할을 한다. 따라서 본 발명자들은 상기 실험예 1에서 확인한 푸코스테롤의 아밀로이드 베타 생성 억제가  $\alpha$ -세크레타아제,  $\beta$ -세크레타아제 및  $\gamma$ -세크레타아제 중 어느 효소 작용에 의한 것인지 확인하기 위해 다음과 같은 실험을 수행하였다.

[93] 자세하게는, HEK293-APP 세포에 본 발명의 푸코스테롤을 10 $\mu$ M 농도로 처리하여 24시간 동안 반응시킨 후 배양액을 제거하고, 차가운 PBS로 세포를 2회 세척하였다. 그런 다음, 플레이트를 얼음 위에 올려놓은 채 세포 용출 버퍼를

첨가하여 세포 스크래퍼로 긁어 세포를 수집하였다. 이를 얼음 상태에서 1시간 방치한 후 4°C, 12,000rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 모아 새 튜브로 옮기고, 로딩버퍼와 혼합한 후 10% SDS-PAGE에 로딩하여 전기영동하였다. 전기영동 후 젤은 PVDF(polyvinylidene fluoride membrane)로 이동시켰다. 이동이 완료된 PVDF 멤브레인은 비특이적인 단백질을 차단하기 위하여 5% 탈지분유(non-fat dry milk)를 함유한 PBST 버퍼로 2시간 동안 반응시킨 후, 1차 항체(항-ADAM10, 항-BACE1, 항-PS1, 항-actin)로 4°C에서 12시간 동안 반응시키고, 10분 간격으로 PBST 버퍼로 3번 세척하였다. 세척 후 2차 항체(HRP conjugated goat anti rabbit IgG)로 4°C에서 2시간 동안 반응시킨 후 PBST로 다시 3번 세척하였다. 블랏은 ECL 검출 키트 (Santa Cruz, CA, U.S.A.)를 이용하여 검출하였으며 X-ray 필름에 현상하였다. 밴드의 강도는 PDQuest 소프트웨어(version 7.0, Bio-Rad, U.S.A.)를 이용 텐시노미트리(densitometry) 분석을 통해 측정되었다.

- [94] 그 결과 도 3에서 나타난 바와 같이, HEK293-APP 세포에 푸코스테롤을 처리한 실험군에서 경우 ADAM10 단백질 발현이 두드러지게 증대된 반면, BACE1 및 PS1 단백질 발현은 변화되지 않는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과를 통해, 푸코스테롤의 처리로 인한 아밀로이드 베타 40(A $\beta$ 40)과 아밀로이드 베타 42(A $\beta$ 42)의 생성 감소는 ADAM10의 발현 증가에 기인한 것임을 알 수 있었다.

[95]

- [96] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

[97]

- [98] <부호의 설명>

[99] APP: amyloid precursor protein

[100] A $\beta$ : amyloid beta

[101] ADAM10: a disintegrin and metalloprotease 10

[102] BACE1:  $\beta$ -site APP-cleaving enzyme 1

[103] PS1: presenilin 1

[104]

### 산업상 이용가능성

- [105] 본 발명은 장기간 사용에도 인체에 안정하면서 아밀로이드 베타(A $\beta$ ) 펩티드 생성 억제 효과가 우수하여 알츠하이머를 포함한 퇴행성 신경질환의 예방 또는

치료에 유용한 조성물과 건강기능식품을 제공하는 것이 가능하다.

[106]

## 청구범위

- [청구항 1] 푸코스테롤(fucosterol)을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환 예방 또는 치료용 약제학적 조성물.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,  
상기 푸코스테롤은 고평(*Ecklonia stolonifera*) 유래인 것을 특징으로 하는 퇴행성 신경질환 예방 또는 치료용 약제학적 조성물.
- [청구항 3] 제1항에 있어서,  
상기 푸코스테롤은 조성물에 대하여 1 내지 100 $\mu$ M의 농도로 포함되는 것을 특징으로 하는 퇴행성 신경질환 예방 또는 치료용 약제학적 조성물.
- [청구항 4] 제1항에 있어서,  
상기 푸코스테롤은 아밀로이드 전구 단백질(amyloid precursor protein: APP) 절단 효소 중  $\alpha$ -세크레타아제( $\alpha$ -secretase)의 활성 또는 발현을 증대시키는 기작을 통해 아밀로이드 베타 펩티드의 생성을 억제하는 것을 특징으로 하는 퇴행성 신경질환 예방 또는 치료용 약제학적 조성물.
- [청구항 5] 제4항에 있어서,  
상기  $\alpha$ -세크레타아제( $\alpha$ -secretase)는 ADAM10(a disintegrin and metalloprotease 10)인 것을 특징으로 하는 퇴행성 신경질환 예방 또는 치료용 약제학적 조성물.
- [청구항 6] 제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,  
상기 퇴행성 신경질환은 알츠하이머 질환, 파킨슨 질환, 루게릭 질환, 헌팅톤 질환, 근위축성 측삭 경화증, 다발성 경화증, 면역계이상 뇌기능 부전, 진행성 신경퇴행질환, 대사성 뇌질환, 니만-픽병, 뇌 허혈 및 뇌출혈로 인한 치매로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 퇴행성 신경질환 예방 또는 치료용 약제학적 조성물.
- [청구항 7] 푸코스테롤(fucosterol)을 유효성분으로 포함하는 퇴행성 신경질환 예방 또는 개선용 건강기능식품.
- [청구항 8] 제7항에 있어서,  
상기 푸코스테롤은 아밀로이드 전구 단백질(amyloid precursor protein: APP) 절단 효소 중  $\alpha$ -세크레타아제( $\alpha$ -secretase)의 활성 또는 발현을 증대시키는 기작을 통해 아밀로이드 베타 펩티드의 생성을 억제하는 것을 특징으로 하는 퇴행성 신경질환 예방 또는 개선용 건강기능식품.
- [청구항 9] 제7항에 있어서,

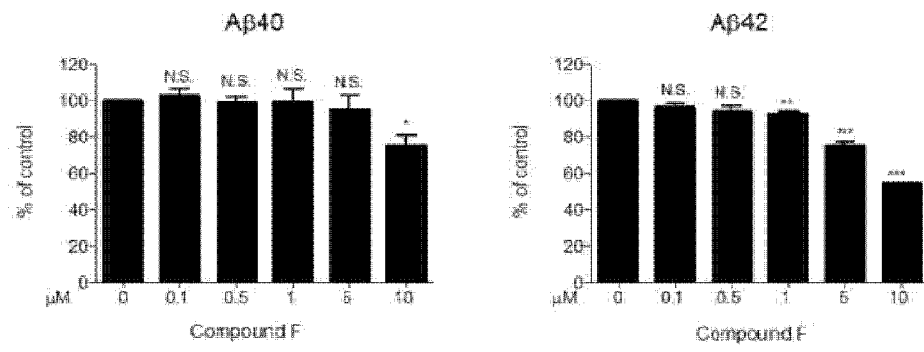
[청구항 10]

상기 퇴행성 신경질환은 알츠하이머 질환인 것을 특징으로 하는 퇴행성 신경질환 예방 또는 개선용 건강기능식품.

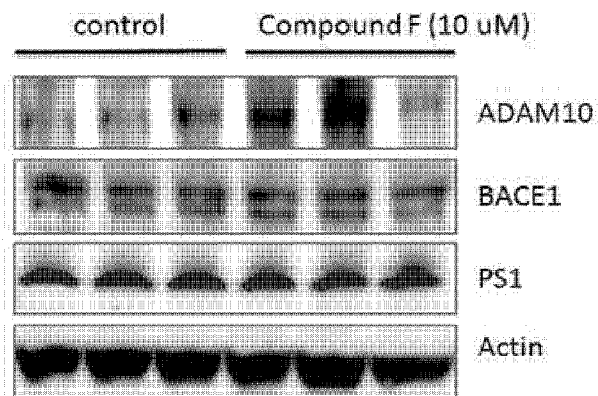
제7항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 식품은 음료류, 육류, 초코렛, 식품류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 떡류, 껌류, 사탕류, 아이스크림류, 알코올 음료류, 주류, 비타민 복합제 및 건강보조식품류로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 퇴행성 신경질환 예방 또는 개선용 건강기능식품.

[Fig. 1]



[Fig. 2]



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

**PCT/KR2013/011924****A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER****A61K 31/56(2006.01)i, A61K 36/28(2006.01)i, A61P 25/28(2006.01)i, A61P 25/00(2006.01)i**

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 31/56; A61K 31/70; C07J 9/00; A61K 36/02; A61K 36/28; A61P 25/28; A61P 25/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: fucosterol, fucosterol, Ecklonia stolonifera, Ecklonia stolonifera, nervous disorder, alzheimer's disease, parkinson, amyloid,  $\alpha$ -secretase,  $\alpha$ -secretase**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages          | Relevant to claim No. |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| X         | NY YOON et al., Fisheries Science, 2008, vol. 74, pp. 200-207<br>See pages 200-201 and 205. | 1-3,6-7,9-10          |
| Y         |                                                                                             | 4-6,8,10              |
| Y         | L. CUSTODIO et al., Food Chemistry, August 2011, vol. 131, pp. 134-140<br>See page 137.     | 4-6,8,10              |
| A         |                                                                                             | 1-3,7,9               |
| A         | KR 10-2006-0052792 A (FORBES MEDI-TECH INC.) 19 May 2006<br>See claims 29-35.               | 1-10                  |
| A         | KR 10-0518179 B1 (SBM CO., LTD et al.) 29 September 2005<br>See claim 1.                    | 1-10                  |
| A         | KR 10-2005-0076104 A (SBM CO., LTD) 26 July 2005<br>See claim 1.                            | 1-10                  |



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

**08 MAY 2014 (08.05.2014)**

Date of mailing of the international search report

**09 MAY 2014 (09.05.2014)**

Name and mailing address of the ISA/KR



Korean Intellectual Property Office  
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,  
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.

**PCT/KR2013/011924**

| Patent document<br>cited in search report | Publication<br>date | Patent family<br>member                                                                                                            | Publication<br>date                                                                            |
|-------------------------------------------|---------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|
| KR 10-2006-0052792 A                      | 19/05/2006          | AU 2004-255285 A1<br>CA 2531836 A1<br>CN 1832957 A0<br>EP 1644399 A2<br>JP 2007-525470 A<br>WO 2005-005453 A2<br>WO 2005-005453 A3 | 20/01/2005<br>20/01/2005<br>13/09/2006<br>12/04/2006<br>06/09/2007<br>20/01/2005<br>09/06/2005 |
| KR 10-0518179 B1                          | 29/09/2005          | KR 10-2004-0048166 A                                                                                                               | 07/06/2004                                                                                     |
| KR 10-2005-0076104 A                      | 26/07/2005          | NONE                                                                                                                               |                                                                                                |

**A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))**

A61K 31/56(2006.01)i, A61K 36/28(2006.01)i, A61P 25/28(2006.01)i, A61P 25/00(2006.01)i

**B. 조사된 분야**

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61K 31/56; A61K 31/70; C07J 9/00; A61K 36/02; A61K 36/28; A61P 25/28; A61P 25/00

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 푸코스테롤, fucosterol, 곰피, Ecklonia stolonifera, 신경질환, 알츠하이머, 파킨슨, 아밀로이드, 알파-세크레타아제,  $\alpha$ -secretase

**C. 관련 문헌**

| 카테고리* | 인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재                                                            | 관련 청구항         |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| X     | NY YOON et al, Fisheries Science, 2008, Vol. 74, pp. 200-207<br>페이지 200-201 및 205 참조. | 1-3, 6-7, 9-10 |
| Y     |                                                                                       | 4-6, 8, 10     |
| Y     | L. CUSTODIO et al, Food Chemistry, August 2011, Vol. 131, pp. 134-140<br>페이지 137 참조.  | 4-6, 8, 10     |
| A     |                                                                                       | 1-3, 7, 9      |
| A     | KR 10-2006-0052792 A (포비스 메디-테크 인코포레이티드) 2006.05.19<br>청구항 29-35 참조.                  | 1-10           |
| A     | KR 10-0518179 B1 (벤트리 주식회사 외 1명) 2005.09.29<br>청구항 1 참조.                              | 1-10           |
| A     | KR 10-2005-0076104 A (주식회사 라이브코드) 2005.07.26<br>청구항 1 참조.                             | 1-10           |



추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.



대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

\* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2014년 05월 08일 (08.05.2014)

국제조사보고서 발송일

2014년 05월 09일 (09.05.2014)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

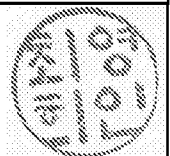
대한민국 특허청  
(302-701) 대전광역시 서구 청사로 189,  
4동 (둔산동, 정부대전청사)

팩스 번호 +82-42-472-7140

심사관

최영희

전화번호 +82-42-481-8287



| 국제조사보고서에서<br>인용된 특허문헌 | 공개일        | 대응특허문헌                                                                                                                             | 공개일                                                                                            |
|-----------------------|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|
| KR 10-2006-0052792 A  | 2006/05/19 | AU 2004-255285 A1<br>CA 2531836 A1<br>CN 1832957 A0<br>EP 1644399 A2<br>JP 2007-525470 A<br>WO 2005-005453 A2<br>WO 2005-005453 A3 | 2005/01/20<br>2005/01/20<br>2006/09/13<br>2006/04/12<br>2007/09/06<br>2005/01/20<br>2005/06/09 |
| KR 10-0518179 B1      | 2005/09/29 | KR 10-2004-0048166 A                                                                                                               | 2004/06/07                                                                                     |
| KR 10-2005-0076104 A  | 2005/07/26 | 없음                                                                                                                                 |                                                                                                |